

CHITOSAN PREPARATION WITH MULTISTAGE DEACETYLATION OF CHITIN AND INVESTIGATION OF ITS PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES

Preparasi Kitosan Melalui Deasetilasi Kitin Secara Bertahap dan Sifat Fisikokimianya

Ahmad Budi Junaidi^{1,*}, Indriana Kartini², and Bambang Rusdiarso²

¹Chemistry Study Program, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Lambung Mangkurat University, Banjarbaru

²Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

Received May 30, 2009; Accepted September 16, 2009

ABSTRACT

Study of chitosan prepared with chitin deacetylation by multistage alkali treatments has been done. Chitin was extracted from Lampung white shrimp's (*Litopenaeus vannamei*) shell. The FTIR spectroscopy was used to determine deacetylation degree of chitin/chitosan. Viscometry was used to determine molecular weight of chitosan. Effect of chitin deacetylation by multistage alkali treatments toward deacetylation degree and molecular weight was studied by comparing it with continuous alkali treatment. The results showed that chitosan prepared by multistage alkali treatment had higher deacetylation degree than those of obtained by continuous alkali treatment. Multistage alkali treatment does not influence the chitosan's molecular weight. Despite its significant effect on the deacetylation process, concentration of alkali does not significantly effect the process of depolymerization.

Keywords: chitin, chitosan, multistage treatments, deacetylation degree, molecular weight

PENDAHULUAN

Kitin adalah senyawa polisakarida terbesar kedua di bumi setelah selulosa dan menjadi bahan utama pembentuk cangkang hewan seperti kulit udang, kepiting, rajungan, kalajengking, cumi-cumi, serangga, laba-laba, ulat sutera dan gurita [1-3]. Kitin merupakan polimer yang layak menjadi material fungsional sebab memiliki keunggulan dalam hal biokompatibilitas, biodegradabilitas, non toksik dan sifat adsorpsinya. Akan tetapi, biofungsional kitin dibatasi oleh proses kelarutannya [3]. Keterbatasan kelarutan kitin ini dapat diatasi dengan mengkonversinya menjadi kitosan dan turunannya sehingga potensi aplikasi biomaterial ini menjadi terbuka lebar.

Karakteristik kitosan yang biasanya digunakan sebagai parameter dalam aplikasinya adalah derajat deasetilasi dan berat molekul sangat ditentukan oleh proses preparasi kitosan tersebut. Hasil penelitian menunjukkan bahwa peningkatan harga derajat deasetilasi merupakan fungsi peningkatan dari konsentrasi NaOH, temperatur reaksi dan waktu reaksi [3]. Hasil penelitian regenerasi NaOH pada proses deasetilasi signifikan meningkatkan derajat deasetilasi [4].

Untuk keperluan penelitian, beberapa peneliti membuat satu seri kitosan dengan derajat deasetilasi yang relatif sama tetapi berat molekulnya bervariasi. Seri kitosan tersebut dapat dipreparasi dengan depolimerisasi kitosan menggunakan CH₃COOH 5% [5]

atau HCl 2,5 N [6]. Sebaliknya, satu seri kitosan dengan derajat deasetilasi yang bervariasi tetapi berat molekulnya relatif sama dapat dilakukan dengan meminimalisasi degradasi rantai polimer pada saat N-deasetilasi dengan memberi perlakuan menggunakan nitrogen [7], penambahan EDTA [1] atau NaBH₄ [8-9].

Penelitian ini dilakukan untuk membuat kitosan dengan derajat deasetilasi yang bervariasi tetapi berat molekul relatif sama dengan proses deasetilasi secara bertahap. Penelitian yang dilaksanakan ini fokusnya untuk menghasilkan kitosan dengan derajat deasetilasi yang tinggi. Selain parameter derajat deasetilasi, juga dilakukan analisis terhadap berat molekul kitosan yang dihasilkan. Hal ini mengacu pada hasil penelitian yang menyatakan bahwa konsentrasi NaOH tidak berpengaruh signifikan terhadap terjadinya depolimerisasi dalam proses deasetilasi, terjadinya proses depolimerisasi kitosan pada reaksi deasetilasi lebih disebabkan oleh temperatur dan lamanya reaksi [3].

METODE PENELITIAN

Bahan

Kulit udang putih (*Litopenaeus vannamei*) dari Lampung, NaOH (Merck), HCl (Merck), NaOCl (Brataco lab.), akuades, KBr, CH₃COOH (Merck), NaCl (Merck), aseton teknis (Asia lab.).

* Corresponding author.

Email address : a_budi_j@yahoo.co.id

Alat

Blender (Philip), ayakan ukuran 100 mesh (Retsch), serangkaian alat refluks, timbangan analitik (Mettler AE 160), cawan porselin, spektrofotometer inframerah (Shimadzu FTIR-8201 PC), stopwatch, viskometer (Schott), oven (Fischer Scientific).

Prosedur Kerja

Isolasi kitin dari serbuk kulit udang

Kulit udang diblender dan diayak hingga diperoleh serbuk dengan ukuran ≤ 100 mesh. Isolasi kitin dari serbuk kulit udang dilakukan melalui proses deproteinasi, demineralisasi dan depigmentasi. Serbuk kulit udang dideproteinasi dengan direfluks menggunakan NaOH 4% dengan perbandingan 1 : 10 (berat : volume) pada temperatur 80 °C selama 1 jam, serbuk sampel disaring dan dicuci dengan akuades hingga netral. Serbuk udang hasil deproteinasi didemineralisasi menggunakan HCl 1 M dengan perbandingan 1 : 15 (berat : volume) pada temperatur kamar selama 3 jam, serbuk disaring dan dicuci dengan akuades hingga netral. Serbuk udang hasil deproteinasi dan demineralisasi didepigmentasi menggunakan NaOCl 4% dengan perbandingan 1 : 10 (berat : volume) pada temperatur kamar selama 1 jam, serbuk hasil depigmentasi disaring dan dicuci dengan akuades hingga netral.

Preparasi kitosan

Kitin hasil isolasi dari kulit udang dideasetilasi secara bertahap dengan direfluks menggunakan NaOH 60% dengan perbandingan 1 : 15 (berat : volume) pada temperatur 120 °C selama 1 x 3 jam (deasetilasi satu tahap), 2 x 1,5 jam (deasetilasi dua tahap) dan 3 x 1 jam (deasetilasi tiga tahap) [4]. Setiap tahapan deasetilasi dilakukan regenerasi larutan NaOH dengan yang baru, serbuk hasil deasetilasi disaring dan dicuci dengan akuades hingga netral.

Analisis gugus fungsional dan penentuan derajat deasetilasi kitin dan kitosan

Gugus fungsional dan derajat deasetilasi kitin dan kitosan ditentukan dengan menggunakan pendekatan spektroskopi inframerah. Serbuk kitin dan kitosan dianalisis dalam bentuk pelet dengan KBr (1 : 100 berat/berat). Pelet dianalisis serapan gugus-gugusnya pada rentang bilangan gelombang 4000 - 400 cm^{-1} .

Derajat deasetilasi kitin dan kitosan ditentukan berdasarkan persamaan Baxter yang diusulkan oleh Khan *et al.* [10]:

$$DD = 100 - \left[\frac{A_{1655}}{A_{3450}} \times 115 \right]$$

Absorbansi pada λ gugus amida dan gugus hidroksil yang digunakan sebagai dasar perhitungan derajat deasetilasi direpresentasikan dengan persamaan matematika Sabnis dan Block yang diusulkan oleh Khan *et al.* [10].

Penentuan berat molekul kitosan

Berat molekul kitosan ditentukan berdasarkan metode viskometri. Kitosan A dilarutkan dalam larutan 0,1 M CH_3COOH dan 0,2 M NaCl sehingga diperoleh larutan kitosan A dengan konsentrasi bervariasi : 0; 0,025; 0,050; 0,075; 0,100; 0,150 dan 0,200% [9]. Masing-masing larutan kitosan A dimasukkan ke dalam viskometer dan diukur laju alir. Data laju alir diolah untuk menentukan viskositas intrinsik $[\eta]$ berdasarkan persamaan Huggins [11]:

$$\frac{\eta_{sp}}{C} = [\eta] + k' [\eta]^2 C$$

Kitosan B dan C pada konsentrasi 0,15% ditentukan laju alirnya untuk dikonversi menjadi viskositas intrinsik, $[\eta]$ menggunakan persamaan Huggins dengan harga konstanta Huggins (k') yang telah diperoleh dari kitosan A [12]. Viskositas intrinsik yang diperoleh digunakan untuk menentukan berat molekul masing-masing kitosan tersebut berdasarkan persamaan Mark-Houwink : $[\eta] = K M^\alpha$, dengan harga konstanta Mark-Houwink K dan α ini masing-masing $1,81 \times 10^{-8} \text{ cm}^3/\text{g}$ dan 0,93 [13-14].

HASIL DAN PEMBAHASAN

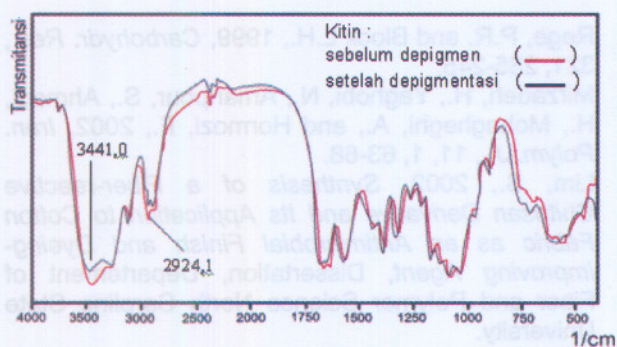
Gugus Fungsional Kitin dan Kitosan

Spektra IR kitin (Gambar 1) menunjukkan serapan kuat pada daerah $3441,0 \text{ cm}^{-1}$ yang berasal dari vibrasi ulur gugus -OH. Pita serapan sedang (*medium*) pada daerah $2924,1 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan vibrasi ulur -CH₂- simetri [3,9,15].

Serapan tajam pada daerah $1651,1 \text{ cm}^{-1}$ akibat vibrasi ulur -C=O, serapan pada $1157,3 \text{ cm}^{-1}$ berasal dari vibrasi ulur -C-O dan diperkuat serapan pada daerah $3271,3$ dan $3109,2 \text{ cm}^{-1}$ serta $1627,9 \text{ cm}^{-1}$ yang berasal dari vibrasi tekuk N-H mengindikasikan adanya gugus N-asetil yang terkonjugasi [3,9,16].

Pita serapan tajam pada $1558,5 \text{ cm}^{-1}$ dan $1311,6 \text{ cm}^{-1}$ akibat vibrasi ulur -NH dan vibrasi tekuk -CN dari gugus N-asetil (-NHCOCH₃). Pita serapan pada $1028,1 \text{ cm}^{-1}$ akibat vibrasi ulur simetris C-O-C dan $1072,4 \text{ cm}^{-1}$ akibat vibrasi ulur asimetris dari cincin glukosamin [9,17].

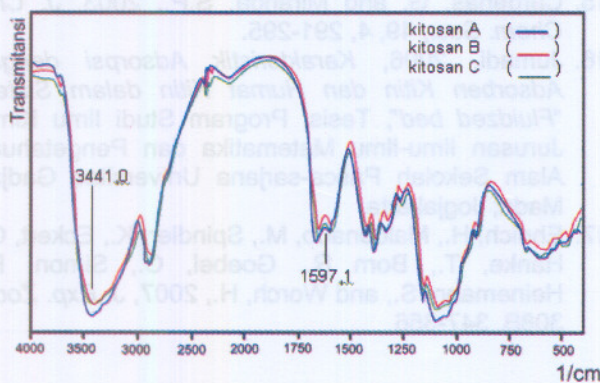
Penurunan pita serapan pada $2924,1 \text{ cm}^{-1}$ yang mengindikasikan berkurangnya sebagian senyawa pengotor yang mengandung gugus metilen akibat perlakuan depigmentasi. Senyawa yang lepas tersebut kemungkinan merupakan senyawa karotenoid yang



Gambar 1. Spektra inframerah kitin depigmentasi dan tanpa depigmentasi



Gambar 2. Perbedaan warna serbuk kitin sebelum dan setelah depigmentasi

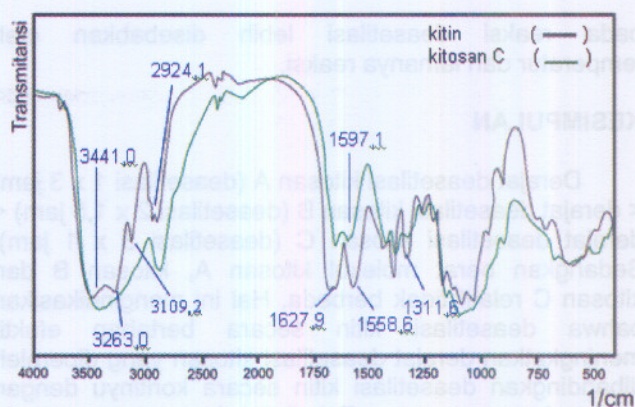


Gambar 3. Spektra infra merah : kitosan A, kitosan B dan kitosan C

memberikan warna seperti *asthaxanthin*. Hal ini didukung dengan terjadinya perubahan warna kitin menjadi lebih putih secara signifikan (Gambar 2).

Spektra IR kitosan (Gambar 3) menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan pita serapan yang signifikan antar ketiga jenis kitosan (kitosan A, B dan C). Hal ini menunjukkan bahwa regenerasi larutan NaOH pada proses deasetilasi tidak mempengaruhi gugus fungsional kitosan yang dihasilkan.

Spektra IR kitosan jika dibandingkan dengan spektra IR kitin depigmentasi (Gambar 4) teramati adanya beberapa perbedaan yaitu: Hilangnya pita



Gambar 4. Spektra inframerah kitin depigmentasi dan kitosan C

Tabel.1 Derajat deasetilasi (DD) dan berat molekul (MW) kitin dan kitosan

No.	Sampel	DD (%)	MW (Da)
1	Kitin tanpa depigmentasi	40,17	-
2	Kitin depigmentasi	40,36	-
3	Kitosan A	76,48	365.154
4	Kitosan B	79,60	318.738
5	Kitosan C	84,16	340.078

serapan pada 3263 cm^{-1} , $3109,2\text{ cm}^{-1}$, $1558,6\text{ cm}^{-1}$ dan $1627,9\text{ cm}^{-1}$ serta hilangnya pita serapan pada $1311,6\text{ cm}^{-1}$ mengindikasikan hilangnya gugus asetil [9] dan Munculnya pita serapan pada $1597,1\text{ cm}^{-1}$ yang merupakan akibat adanya vibrasi tekuk N-H dari R-NH_2 yang mengindikasikan meningkatnya derajat deasetilasi.

Derajat Deasetilasi dan Berat Molekul Kitin dan Kitosan

Hasil penelitian (seperti yang terlihat dalam Tabel 1) menunjukkan bahwa derajat deasetilasi kitosan A < kitosan B < kitosan C. Hal ini mengindikasikan regenerasi NaOH signifikan meningkatkan efektivitas proses deasetilasi. Selama reaksi hidrolisis kitin berlangsung, konsentrasi larutan NaOH makin lama semakin berkurang yang menyebabkan reaktivitasnya semakin berkurang hingga semakin kurang efektif sebagai agen deasetilasi. Dengan melakukan regenerasi larutan NaOH, maka reaktivitas NaOH untuk mendeasetilasi kitin kembali efektif.

Berdasarkan data Tabel 1, harga berat molekul kitosan A, kitosan B dan kitosan C yang diperoleh relatif hampir sama. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Champagne [3], yang menyatakan bahwa konsentrasi NaOH tidak berpengaruh signifikan terhadap terjadinya depolimerisasi dalam proses deasetilasi. Terjadinya proses depolimerisasi kitosan

pada reaksi deasetilasi lebih disebabkan oleh temperatur dan lamanya reaksi.

KESIMPULAN

Derajat deasetilasi kitosan A (deasetilasi 1 x 3 jam) < derajat deasetilasi kitosan B (deasetilasi 2 x 1,5 jam) < derajat deasetilasi kitosan C (deasetilasi 3 x 1 jam). Sedangkan berat molekul kitosan A, kitosan B dan kitosan C relatif tidak berbeda. Hal ini mengindikasikan bahwa deasetilasi kitin secara bertahap efektif meningkatkan derajat deasetilasi kitosan yang diperoleh dibandingkan deasetilasi kitin secara kontinyu dengan total waktu yang sama. Teknik ini tidak mempengaruhi harga berat molekul (derajat polimerisasi) kitosan yang dihasilkan.

DAFTAR PUSTAKA

- Kim S.F., 2004, *Physicochemical and Functional Properties of Crawfish Chitosan as Affected by Different Processing Protocols*, Thesis, Departement of Food Science Louisiana State University.
- Fouda, M.M.G., 2005, *Use of Natural Polysaccharides in Medical Textile Application*, Dissertation, Fachbereich Chemie Universitat Duisburg-Essen, Germany.
- Champagne L.M., 2008, *The Synthesis of Water Soluble N-Acyl Chitosan Derivatives for Characterization as Antibacterial Agents*, Dissertation, Departement of Chemistry, Louisiana State University.
- Yaghobi, N. and Mirzadeh, H., 2003, *Iran. Polym. J.*, 13, 2, 131-136.
- Liu N., Xi-Guang, C., Hyun-Jin, P., Chen-Guang, L., Cheng-Sheng, L., Xiang-Hong, M., and Le-Jun, Y., 2006, *Carbohydr. Polym.*, 64, 60-65
- Rege, P.R. and Block L.H., 1999, *Carbohydr. Res.*, 321, 235-245.
- Mirzadeh, H., Yaghobi, N., Amanpour, S., Ahmadi, H., Mohagheghi, A., and Hormozi, F., 2002, *Iran. Polym. J.*, 11, 1, 63-68.
- Lim, S., 2002, *Synthesis of a Fiber-reactive Chitosan Derivative and Its Application to Cotton Fabric as an Antimicrobial Finish and Dyeing-improving Agent*, Dissertation, Departement of Fiber and Polymer Science North Caroline State University.
- Gyliene, O., Inga, R., Rima, T., and Ona, N., 2003, *Chemija (Vilnius)*, 14, 3, 121-127.
- Khan, A.T., Khiang, P.K. and Seng, C.H., 2002, *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.*, 5, 3, 205-212.
- James, E.M., Harry, R.A., and Robert, W. 1992, *Inorganic Polymers*, Prentice-Hall International, Inc., New Jersey, 14-17.
- Laka, M. and Svetlana, C., 2006, *Proc. Est. Acad. Sci. Chem.*, 55, 2, 78-84
- No, H.K., Lee, S.H., Park, N.Y., and Meyers, S.P., 2003, *J. Agric. Food Chem.*, 51, 7659-7663
- Tretenichenko, E.M., Datsun, V.M., Ignatyuk, L.N., and Nud'ga, L.A., 2006, *Russ. J. Appl. Chem.*, 79, 8, 1341-1346.
- Cardenas, G. and Miranda, S.P., 2003, *J. Chil. Chem. Soc.*, 49, 4, 291-295.
- Jumadi, 2006, *Karakteristik Adsorpsi dengan Adsorben Kitin dan Humat Kitin dalam Sistem "Fluidized bed"*, Tesis, Program Studi Ilmu Kimia Jurusan Ilmu-Ilmu Matematika dan Pengetahuan Alam Sekolah Pasca-sarjana Universitas Gadjah Mada, Jogjakarta
- Ehrlich, H., Maldonado, M., Spindler, K., Eckert, C., Hanke, T., Born R., Goebel, C., Simon, P., Heinemann, S., and Worch, H., 2007, *J. Exp. Zool.*, 308B, 347-356